【使用上または取り扱い上の注意事項】

1） 使用上の注意事項

① 本キットをご使用になる際には、取扱説明書をよく読み、記載された試験方法に従って使用してください。
② 使用期限の過ぎたキットは使用しないでください。使用期限はキット外装ラベルおよびテストストリップアルミ包装に記載されています。**
③ 本キットは食品中から大腸菌 O157 を検出するための試薬であり、臨床的診断を下す目的で使用することはできません。
④ 試料中の成分の影響により、偽陽性が示される可能性があります。本キットで陽性を示した試料については、公定検査法等他の方法により、必ず確認を行ってください。
⑤ 試料溶液の調製に使用する器具ならびに試薬類（培地を含む）の使用方法等については、それぞれの製造元もしくは販売元にご確認ください。
⑥ 本取扱説明書は検査担当者のガイドラインとして作成されています。各操作手順や各々の食品におけるアプリケーションの妥当性については自ら検証してください。
⑦ 商品の仕様については、予告なく変更になる場合があります。

2） 危険防止上の注意事項

① 本キットの検出対象である大腸菌 O157 は微量でも感染する可能性があります。また、大腸菌 O157 以外の微生物による感染の可能性もあるため、試験を実施する際には保護手袋、保護メガネ等を着用するなど十分留意してください。
② 試験を実施する際には、適切な設備・施設で行い、責任ある管理者の指導のもとで標準的な微生物検査手順にて実施してください。
③ 誤って試料溶液等が目や口に入った場合には、直ちに水道水で洗い流す等の応急処置を行い、医師の手当てを受けてください。
④ 本キットによる試験実施後、身体に異常を感じた場合には、直ちに医師の手当てを受けてください。

3） 廃棄上の注意事項

① 試験に使用したテストストリップや増菌培地、試料および試料溶液の残り等は、感染の可能性があると考え、必ずオートクレーブ処理（121℃、20 分）、もしくは 0.1％次亜塩素酸ナトリウム溶液に 1 時間以上浸すなどの適切な滅菌処理を施してください。**
② 本キットならびに試料および試料溶液の残りなどを廃棄する場合には、当該地域の廃棄物に関する規定に従い、衛生面、環境面に十分配慮し廃棄してください。

【貯法・使用期限】

1） 貯法 ： 冷蔵（2～8℃）、遮光にて保存してください。また、凍結は避けてください。
2） 使用期限 ： 製造日より 12 ヶ月。

【包装単位】

NH イムノクロマト O157　　20 テスト入

【参考文献】

1） 厚生労働省監修：食品衛生検査指針微生物編，（社）日本食品衛生協会，168-179（2004）.
2） 甲斐明美ら：臨床と微生物，23，827-834（1996）.
3） 厚生省「腸管出血性大腸菌 O157 の検査法について」（平成 9 年 7 月 4 日衛食第 207 号・衛乳第 199 号）.
4） 厚生省「腸管出血性大腸菌 O157 の検査法の解説について」（平成 9 年 7 月 17 日厚生省生活衛生局食品保健課・乳肉衛生課事務連絡）.

〔販売元および問い合わせ先〕

キット外装ラベルに記載

〔製造元〕

〒300-2646　茨城県つくば市緑ヶ原 3-3
日本ハム株式会社　中央研究所
電話：029(847)7825／FAX：029(847)7824
URL：http://www.rdc.nipponham.co.jp

1C3

［食品検査用試薬］

2009 年 9 月改訂（第 3 版）**
2006 年11月改訂（第 2 版）*

NHイムノクロマトO157 ≪取扱説明書≫

※本キットをご使用になる前に必ずお読みください。

【開発の経緯】

病原性大腸菌（下痢原性大腸菌）による食中毒は、食物の摂取により大腸菌が、腸管内に取り込まれ増殖することにより発症する感染型食中毒です。この病原性大腸菌は大きく 5 種類に分類されています[1]。これらのうち、腸管出血性大腸菌はそれらが産生するベロ毒素（Vero toxin :VT）により出血性大腸炎を起こし、まれに溶血性尿毒素症候群（Hemolytic Uremic Syndrome :HUS）や脳症などを起こし死亡する症例も報告されていること、また、過去に大規模食中毒事例が認められることなどから、病原性大腸菌の中でも食品衛生上最も重要視されています。腸管出血性大腸菌はO157 をはじめとして、O26、O111、O118、O103、O121 などの血清型が検出されていますが、日本国内では、その大部分はO157 であると報告されています[2]。

本品は、イムノクロマト法を用いた食品中の大腸菌 O157 検出キットで、簡単な操作で短時間に結果を得ることができます。

【本品の特徴】

1） 1 ステップの簡単な操作のため、習熟を必要としません。
2） 迅速に結果が得られます。
3） 特別な検出装置を必要としません。

【キットの内容】

1） 構成品**

A： テストストリップ…… 2 テスト×10
B： 取扱説明書…… 1 部
C： ビニールパウチ袋…… 1 枚

2） 成分**

① 試薬含有部
金コロイド標識抗大腸菌 O157 抗体（ヤギ）
② 展開部
抗大腸菌 O157 抗体（ウサギ）
抗ヤギ免疫グロブリン抗体（ウサギ）

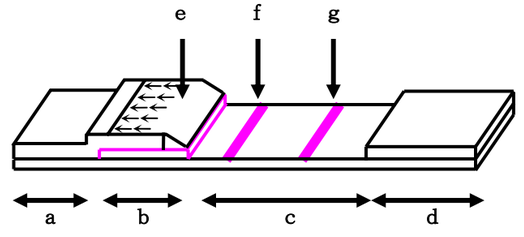
【目的】

1） 食品中に含まれる大腸菌O157 の検出。

注1：本キットは大腸菌 O157 検出用の試薬のため、ベロ毒素産生の有無は確認できません。

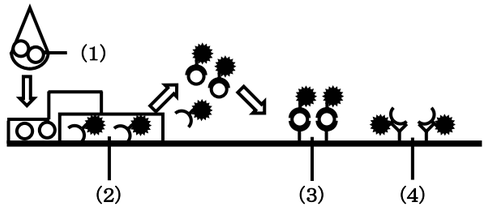
【テストストリップ各部名称および検出原理**】

1） テストストリップ各部名称**



a. 試料滴下部（**手で触れないよう注意してください。**）
b. 試薬含有部
c. 展開部
（手で触れたり、キズをつけないよう注意してください。）
d. 吸収パッド
e. 測定項目記載位置
f. テストライン出現位置（**試料滴下部より約 30mm**）
g. コントロールライン出現位置（**試料滴下部より約 38mm**）

2） 検出原理**



テストストリップの試料滴下部に試料溶液を滴下すると、試薬含有部に含まれる金コロイド標識抗大腸菌 O157 抗体(2)が溶解し、試料溶液中の大腸菌 O157(1)と複合体を形成します。これらの複合体は展開部を毛細管現象により移動し、テストライン出現位置に固定化された抗大腸菌 O157 抗体(3)に捕捉され、金コロイドによる赤紫色のラインが出現します。本キットはこの赤紫色のラインを目視により確認し、試料溶液中の大腸菌 O157 の有無を判定します。
一方、試料溶液中の大腸菌 O157 の有無に関わらず、余剰の金コロイド標識抗体が展開部をさらに移動し、コントロールライン出現位置に固定化された抗ヤギ免疫グロブリン抗体(4)に捕捉され、赤紫色のラインを形成します。このラインの有無により、試料溶液が展開部を正常に移動したことを確認します。

【試料溶液の調製】

※　試料溶液の調製方法は、公定検査法[3), 4)]を元に記載しています。

1）　必要な機器・器材

ストマッカー袋(フィルター付を推奨)、ストマッカー、インキュベーター、オートクレーブ、増菌用培地、ほか

2）　試料の調製

①　被検食品から 200g以上を採取してください。なお、表面汚染が考えられる場合には、表面部 300～500cm^{2}を厚さ 0.2～0.3mmに薄く削り取ってください。

②　採取した検体の全体を細切にし混和した後、その 25g をストマッカー袋に秤量して試料としてください。

3）　増菌培養

①　ストマッカー袋中の試料 25g に対して、ノボビオシン加mEC培地 225mL を加え、1 分間ストマッカー処理を行ってください。

②　ストマッカー袋ごと、42℃で 18～24 時間培養してください。

注1 ノボビオシンを含まない市販のmEC培地を使用する場合には、mEC培地をオートクレーブ滅菌した後冷却し、ノボビオシンナトリウム 4mg/mL 水溶液をろ過滅菌して、mEC培地 1,000mLに対して 5mL(最終濃度 20mg/L)添加してください。

注2 増菌用培地としては、ノボビオシン加mEC培地以外に、トリプトソーヤブイヨン(TSB)もしくは発育増殖抑制剤添加 TSB(mTSB、TSB-CTV、mTSB-VCCなど)も用いることが可能です。

4）　滅菌操作

①　培養終了後、ストマッカー袋をインキュベーターより取り出し、培養液の飛散に注意しながら、緩やかに撹拌してください。

②　滅菌済みピペットを用いて、培養液 5mL をガラス試験管に分注し、オートクレーブ滅菌(121℃、20 分)してください。

③　オートクレーブ滅菌終了後、室温まで十分冷却し、試料溶液としてください。

注 1:　本キットは生菌でも検出可能ですが、試験者の安全確保のため、滅菌済み培養液にて試験を行うことを推奨します。

注 2:　培養液の残りは、本キット試験実施後の確定試験に使用する可能性があるため、試験終了後まで滅菌せず保存してください。

【試験操作】

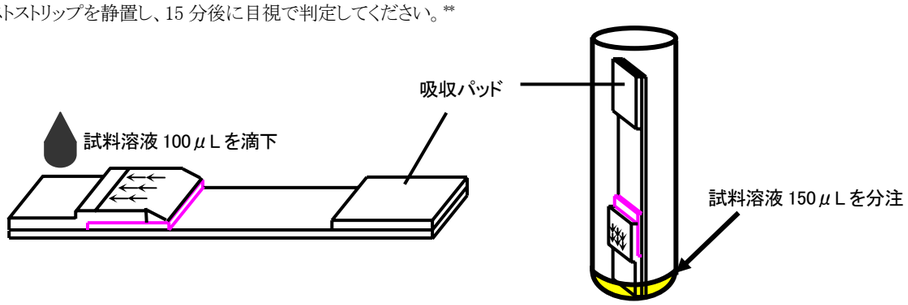
1）　NH イムノクロマト O157 試験操作

①　テストストリップをアルミ包装のまま室温に戻し、使用直前にアルミ包装から取り出してください。**

②　取り出したテストストリップの吸収パッドに油性ペン等を用いて、試料名もしくは検体番号等を記入してください。**

③　テストストリップを水平な台の上に静置し、試料滴下部に試料溶液 100μL滴下してください(下記左図)。もしくは、試料溶液 150μLを試験管に分注し、テストストリップの試料滴下部が試料溶液に浸かるようにテストストリップを試験管に添加してください(下記右図)。**

④　テストストリップを静置し、15 分後に目視で判定してください。**



注 1: テストストリップは吸湿の影響により、正しい結果が得られないことがあるため、室温に戻してからアルミ包装から取り出してください。また、使用しないテストストリップは乾燥剤とともにビニールパウチ袋に入れ冷蔵保存してください。**

注 2:　テストストリップの試料滴下部および展開部には、直接手などで触れたり、キズをつけないよう注意してください。テストストリップを持つ場合には、吸収パッドを持つようにしてください。**

注 3:　試料溶液を滴下もしくは分注するために使用するピペットもしくはチップは必ず滅菌済みのものを使用し、試料溶液ごとに交換してください。

注 4:　試料溶液 100μLを滴下する際には、テストストリップから溢れないよう注意し、必要に応じ、2 回に分けて滴下するなどしてください。**

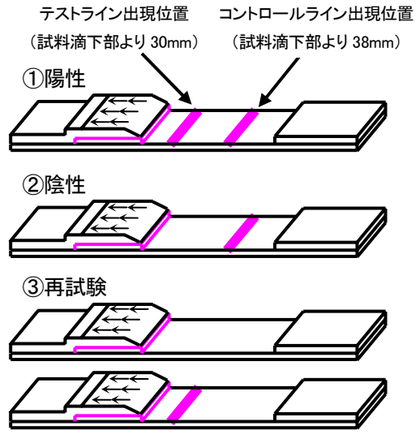
注 5:　作業者の感染防止のため、試料溶液を滴下して試験を行う際には、テストストリップの下にラップなどを敷いて試験を行うことをお勧めします。**

3）　結果の判定

①　試験開始 15 分後にテストライン出現位置およびコントロールライン出現位置に赤紫色のラインが観察される場合には、陽性と判定してください。*

②　テストライン出現位置に赤紫色のラインが認められず、コントロールライン出現位置にのみ赤紫色のラインが観察される場合には、陰性と判定してください。

③　コントロールライン出現位置に赤紫色のラインが認められない場合には、テストライン出現位置における赤紫色のラインの有無に関わらず、再試験としてください。試料溶液の展開に異常があった可能性があります。



注1:　本キットで陽性と判定された試料については、公定検査法などその他の方法にて必ず確認試験を実施してください。なお、本キットの試験に用いた増菌培養済み試料を公定検査法などの確認試験に使用することが可能です。

【性能】

1）　感度試験

本取扱説明書に記載された「試料溶液の調製」および「試験操作」に従い試験を行うとき、大腸菌O157 が1×10^{5}CFU/mL濃度以上のとき陽性を示します。*

2）　再現性試験

大腸菌 O157 陽性の試料溶液、および陰性の試料溶液を各 3 回同時に試験するとき、陽性の試料溶液はすべて陽性、陰性の試料溶液はすべて陰性を示します。

3）　最小検出感度

大腸菌O157 標準菌株3株、分離菌株4株による試験の結果、1×10^4～10^{6}CFU/mLが最小検出感度であることが確認されています。*

注 1:　本キットの最小検出感度は、試料中の成分の影響により、変動する場合があります。

4）　交差反応性

①　以下の菌株との交差反応性は認められませんでした。*

	ATCC 番号	判定結果
Esherichia coli	25922、11775	－
Enterobacter aerogenes	13048	－
Enterobacter cloacae	13047、48141	－
Enterobacter sakazakii	51329	－
Citrobacter freundii	8090、43864	－
Klebsiella pneumoniae	4352	－
Klebsiella oxytoca	8724	－
Serratia liquefaciens	27592	－
Serratia marcescens	8100	－
Serratia odorifia	33077	－

②　*Citrobacter freundii* の一部および *Salmonella Kumasi* (O30)は、大腸菌 O157 と同一抗原を保有しているため、交差反応性を示す可能性があります。